

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18550

研究課題名（和文）全エクソーム解析によるヒト無精子症患者における新規遺伝子の同定

研究課題名（英文）New genetic identification in patients with human azoospermia by Whole Exome sequencing

研究代表者

水無瀬 学（MINASE, GAKU）

旭川医科大学・大学病院・助教

研究者番号：90646069

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：現段階では、新規遺伝子の候補として可能性のある遺伝子を2つ見いだした。今後ノックアウトマウスを作成し、変異のあるマウスが妊孕性を持つのか、検討を行う。また、精子無力症として報告のある遺伝子であるGALNTL5に関しては、SCOS患者の4名に同定した。さらに、Y染色体上に存在するDDX3Yに関しても、フレームシフト変異を同定した。詳細な機能解析は現在進行中であるが、何らかの機能解析を行うことができた場合には、さらに成果を公表していきたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、学術的な波及効果として、次世代シーケンスに代表される遺伝子解析を行うことで、ヒトの全エクソームを網羅的に解析することが可能である。他の類縁疾患との類似点や相違点を抽出することで、精子形成過程のメカニズムを解明する一助になりうる。また、配偶子形成の過程で生じうる早発閉経や習慣流産といった女性不妊症・不育症の研究へ応用し、遺伝学的なアプローチを介して生殖医学・不妊治療分野への貢献も可能であると考えられる。社会的な波及効果として、従来は精巣生検のみでしか診断できなかった本疾患を、より低侵襲の検査で原因を明らかにすることができ、男性不妊症患者の遺伝学的な診断の確立にも貢献できると考える。

研究成果の概要（英文）：We found two genes with the possibility as new candidate genes. We will consider whether we make knockout mouse, and a mouse with the variation has becoming pregnant characteristics in future. In addition, we identified GALNTL5 reporting as asthenozoospermia to four people of patients with SCOS. Furthermore, we identified a frameshift variant locating on the Y chromosome. The detailed functional analysis is going now, and we want to publicize when we can perform some kind of functional analyses.

研究分野：生殖医学

キーワード：無精子症

1. 研究開始当初の背景

今日、日本の最も深刻な社会問題の一つとして少子化問題が存在し、その背景として不妊症カップルが増加傾向にあることが一般的に認知されている。現在日本では、約 15%のカップルが挙児希望を持ちながら不妊に悩まされている。不妊の原因として、24%は男性側に何らかの原因がある男性因子、また、24%は男性、女性の双方に原因があるといわれ、不妊の約半数は男性因子が関与している。今日までの体外受精、顕微授精、顕微鏡下精巣内精子回収術 (MD-TESE) を用いた顕微授精に代表される不妊治療のめざましい進歩により、不妊治療の成果は徐々に進歩が認められるものの、精巣内に成熟精子を全く有していない非閉塞性無精子症は現在でも不妊治療の大きな壁となっており、有効な治療法が確立されていない。多くの非閉塞性無精子症の患者において遺伝学的な原因が示唆されているものの、その原因のほとんどは今なお明らかにされていない。現在、不妊症外来を訪れる挙児希望の夫婦のうち、精液検査から夫が無精子症と診断された場合、泌尿器科医との連携により、夫の内分泌学的検査、染色体の核型分析、精巣の超音波検査および Y 染色体 AZF 領域の微小欠失の有無の検索などが行われるが、これらの結果により精巣内に精子が存在するか否かがある程度推測可能なものの、現在の医療では実際に MD-TESE を施行して初めて精子の存在の有無が判明するのが現状である。こうした現状をふまえ、ヒト無精子症、特に SCOS に特化し、その原因遺伝子の検索を行うことで、血液から得られた DNA 採取という低侵襲の検査により SCOS を診断することはできないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、ヒト無精子症の中でも、164 名の日本人 SCOS 患者の DNA を用いて次世代シーケンシングを行い、WES 解析を行うことで、ヒト全遺伝子から SCOS の原因となる遺伝子の検索を行う。また、人工知能(AI)は昨今様々な分野で広がりを見せているが、医療においても重要な位置を占めつつある。AI を活用する WDD は、既知遺伝子との関連が強い候補遺伝子あるいは候補疾患・表現型等を順位付けして評価するシステムで、SCOS の解析に有効に利用できると考える。さらに、すでにリクルートされている精子低形成による無精子症患者と、減数分裂停止による無精子症患者にも、SCOS 患者と同様の遺伝子変異を有するかどうかの比較検討を行う。これらの検索・検討を経て、SCOS の原因遺伝子群を同定することができれば、DNA 採取のみで SCOS の診断を行うことが将来的に可能になる。また、閉塞性無精子症の類縁疾患との遺伝学的な類似点・相違点を明らかにすることで、精粗細胞から 2 回の減数分裂を経て精子細胞になり、更に成熟して精子が形成される、一連の精子形成過程のメカニズムを解明することにも寄与すると考える。

3. 研究の方法

164 名のすべての患者は、精巣生検により組織学的に SCOS と厳密に診断されており、これだけの人数をリクルートし、なおかつ WES 解析を行うことはこれまでにない試みである。WDD を活用した新規遺伝子同定の具体的な解析方法として、PubMed の abstract を中心に存在するテキストデータを既知遺伝子群としてデータセットと定義し、全エキソーム解析で得られた候補遺伝子変異と、独自にピックアップした精巣に発現の高い新規原因遺伝子の可能性のある遺伝子間でどの程度疾患に関連性があるのかを検討する。

WDD を用いた遺伝子解析は世界的にも実施されているのは数少なく、AI を活用することにより、遺伝子診断の新たな方向性が見出される可能性がある。また、同定された新規原因遺伝子に関しては、変異を持つ部位の結晶構造解析を行うとともに、原因遺伝子の変異を持つノックアウトマウスを作成し、実際に SCOS の表現型を認めるかどうかといった機能解析を行うことで、全く新規の原因遺伝子の同定を行える可能性がある。

4. 研究成果

現段階では、新規遺伝子の候補として可能性のある遺伝子を 2 つ同定した。まだ詳細を述べることはできないが、今後ノックアウトマウスを作成し、変異のあるマウスが妊孕性を持つのか、繁殖を試みる予定である。また、妊孕性を認めない場合は、精巣生検を行うことにより、精巣内に精子が存在するのか、精巣の組織学的な検索を行うことにしている。

また、そのほかに、現在論文発表が可能と思われる 2 遺伝子を同定した。精子無力症として報告のある遺伝子である *GALNTL5* に関しては、SCOS 患者の 4 名に同定した。表現型は異なるもの

の、精子形成に関連する遺伝子変異として、今後論文発表を行う予定である。
さらに、Y染色体上に存在する *DDX3Y* についても、フレームシフト変異を同定した。この遺伝子は、微少欠失により、無精子症を引き起こすことが報告されているが、1塩基の変異により、フレームシフト変異を起こし、結果的に生成されるアミノ酸が短縮することが予想されている。詳細な機能解析は現在進行中であるが、何らかの機能解析を行うことができた場合には、成果を発表を行いたいと考えている。

人工知能システムを用いた変異解析については、今後さらなる解析を行い、新規遺伝子の同定ができるようなスキーム作りを検討していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miyamoto T, Shin T, Iijima M, Minase G, Okada H, Saijo Y, Segoku K	4. 巻 39
2. 論文標題 The poly(A) polymerase beta gene may not be associated with azoospermia caused by Sertoli-cell-only syndrome in Japanese patients by comparing patients and normal controls.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Obsete Gynaecol	6. 最初と最後の頁 434 436
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/01443615.2018.1504205.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------